



TITLE:

# DRL-917キットによる前立腺酸性フォスファターゼ測定法の検討

AUTHOR(S):

森下, 直由; 小川, 繁晴; 斉藤, 泰; 近藤, 厚

---

CITATION:

森下, 直由 ...[et al]. DRL-917キットによる前立腺酸性フォスファターゼ測定法の検討. 泌尿器科紀要 1980, 26(7): 899-904

ISSUE DATE:

1980-07

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/122682>

RIGHT:

DRL-9I7 キットによる前立腺酸性フォス  
ファターゼ測定法の検討

長崎大学医学部泌尿器科学教室（主任：近藤 厚教授）

森 下 直 由  
小 川 繁 晴  
斉 藤 泰  
近 藤 厚STUDIES ON RADIOIMMUNOASSAY OF PROSTATIC  
ACID PHOSPHATASE BY DRL-9I7 KIT

Naoyoshi MORISHITA, Shigeharu OGAWA,

Yutaka SAITO and Atsushi KONDO

*From the Department of Urology, Nagasaki University School of Medicine**(Director: Prof. A. Kondo)*

Prostatic acid phosphatase (PAP) concentrations were measured by radioimmunoassay (RIA) kit (DRL-9I7).

1) The coefficients of variance of PAP concentrations in inter-assay and intra-assay were  $9.81 \pm 4.45\%$  and  $7.89 \pm 2.45\%$ .

2) The recovery rates in dilution test and recovery test were  $98.75 \pm 7.93\%$  and  $97.05 \pm 7.43\%$ .

3) Significant correlation ( $r=0.687$ ,  $p<0.01$ ) was seen between enzymatic assay (Bessey-Lowry method) and RIA (PAP concentrations  $>2.0$  ng/ml).

4) There was no sex difference of PAP concentrations in normal adults, such as  $0.417 \pm 0.411$  ng/ml ( $n=52$ ) in normal males and  $0.435 \pm 0.577$  ng/ml ( $n=10$ ) in normal females, and the correlation between PAP concentration and aging was not significant.

5) All of the untreated patients and 65.5% of the treated patients with prostatic cancer of stage D had higher PAP concentrations than 2.0 ng/ml in sera, and RIA of PAP seemed to be more specific to prostatic cancer than enzymatic assay in which 91.6% and 23.3% of those had increased activities. But PAP concentrations were elevated falsely in 2 out of 11 patients with benign prostatic hyperplasia.

## は じ め に

前立腺酸性フォスファターゼ (PAP) は分子量10～11万の糖蛋白質<sup>1)</sup>であり、前立腺上皮細胞で生成され、前立腺組織にもっとも多く存在する酸性フォスファターゼ (ACP) の1つである。1931年 Gutman ら<sup>2)</sup>が前立腺癌骨転移患者血清中 ACP 活性が高いことを報告して以来、重要な指標酵素となった。その上昇は非特異的<sup>3)</sup>であるため、現在臨床的にはより特異的な L-

tartrate labile ACP<sup>4)</sup> が使用されている。しかし PAP 以外の ACP もかなりの率で L-tartrate で阻害され<sup>5)</sup>、これにも問題がある。最近 PAP を前立腺組織あるいは精漿より分離精製し、それに対する抗体を用いた radioimmunoassay (RIA)<sup>6)</sup> や counterimmunoelectrophoresis (CIEP)<sup>1,6)</sup> による PAP 測定法が報告されている。われわれは、このたび、第一ラジオアイソトープの PAP・RIA キット (DRL-9I7) を検討する機会を得、この DRL-9I7 は前立腺癌の診断

と治療効果の判定上、有用な検査法であることが判明したのでここに報告する。

### 対象および方法

#### 1. 測定対象

Table 1 に示すごとく、正常男性52例、正常女性10例、前立腺癌 (PC) 56例、他の悪性腫瘍11例、泌尿器科疾患 19 例の血清と一部骨髓血を検体として使用した。

#### 2. 測定方法

1) 酵素活性測定法: Bessey-Lowry 法<sup>7)</sup>に準じ、ACP 活性は Sigma unit/ml で表した。

2) RIA: 精漿より分離精製された PAP を抗原として抗 PAP 抗体を作製し、それらを用いた 2 抗体法 RIA キット (DRL-9I7) を使用した。添付された使用書にしたがって以下のごとく行なった。

① 各濃度標準液 (0, 1, 2, 5, 10, 20, 40 ng/ml) または検体 200  $\mu$ l をアッセイチューブ (ガラス製) にとる。

② 抗 PAP 抗体 200  $\mu$ l, ついで  $^{125}$ I-PAP 溶液 200  $\mu$ l を加え、穏やかに混和する。

Table 1. Subjects of examinations.

	No. Pts.	Av. Pt. Age (mean $\pm$ SD)
Prostatic cancer	56 (41)	73.0 $\pm$ 6.3
stage B	5 (2)	
stage C	13 (11)	
stage D	38 (28)	
Non-prostatic Ca <sup>*</sup>	11	56.4 $\pm$ 11.4
BPH	11	74.4 $\pm$ 7.0
Dysuria	4	66.7 $\pm$ 12.8
Chronic prostatitis	1	69
Urolithiasis	2	55.5 $\pm$ 6.5
Neurogenic bladder	1	49
Normal males	52	
Normal females	10	51.4 $\pm$ 14.8
Total	148	

( ): No. of hormone therapy

<sup>\*</sup> hepatoma 4, metastatic bone tumor 2, (rectal ca. 1, lung ca. 1), lung cancer 2, gastric cancer 1, ureteral tumor 1, bladder tumor 1.

Table 2. Standard curve.

PAP standard (ng/ml)	1.0	2.0	5.0	10.0	20.0	40.0
% B/Bo	93.2	86.3	64.0	57.4	41.5	35.8
	90.0	87.9	71.0	55.7	47.8	40.1
	94.8	86.5	76.1	58.9	51.7	43.4
mean	92.6	86.9	70.3	57.3	47.0	39.7
SD	1.9	0.7	4.9	1.3	4.2	3.1
C.V. %	2.1	0.8	7.0	2.2	8.9	7.8

Table 3. Reproducibility.

Serum	Intra-assay			Inter-assay							
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI
PAP	23.5	9.1	0.59	0	0.60	0.62	6.8	10.5	10.5	14.5	21.0
	22.5	9.3	0.38	0	0.52	0.50	7.6	10.2	12.0	16.0	27.0
	24.5	11.0	0.55	0	0.52	0.59	7.7	8.0	12.0	16.5	27.0
	22.2	9.1	0.52								
	21.2	—	0.63								
mean	22.6	9.9	0.53	0	0.54	0.57	7.3	9.5	11.5	15.6	25.0
SD	1.1	0.7	0.08	0	0.03	0.05	0.4	1.1	0.7	0.8	2.8
C.V. %	5.1	8.2	16.0	—	6.8	8.9	5.4	11.6	6.1	5.4	11.3

- ③ 16～24時間室温に静置する。
- ④ ポリエチレングリコール 第2抗体溶液 1 ml を加え、よく混和する。
- ⑤ 遠心分離してアスピレーターにて上清を吸引、除去する。
- ⑥ 沈澱の放射能を測定し、下式より計数率比  $\%B/B_0$  を求める。
- $$\%B/B_0 = \frac{\text{各標準溶液または検体の平均計数率 (B)}}{0.0 \text{ mg/ml の標準溶液の平均計数率 (B}_0\text{)}} \times 100$$
- ⑦ PAP 濃度 (対数目盛) と  $\%B/B_0$  により得られた標準曲線より検体の PAP 濃度を求める。

### 3. 基礎的検討

#### 1) 標準曲線の再現性

各濃度における  $\%B/B_0$  の変動係数 (CV%) は 0.8～8.9% であり、20～40 mg/ml 付近で変動が大きかった (Table 2)。

#### 2) intra-assay および inter-assay 時の再現性

Table 3 に示すごとく intra-assay と inter-assay における PAP 濃度の CV% は  $9.81 \pm 4.45\%$  と  $7.89 \pm 2.45\%$  であった。

#### 3) 希釈試験

再現性は低濃度でも良好で、再現率は 85.6～109.2% ( $98.75 \pm 7.93\%$ ) であった (Table 4)。

#### 4) 添加回収率試験

PAP 濃度は ng/ml の検体に各濃度標準溶液を 1:1 で混合した場合の再現性は良好で、ほぼ直線の上に

Table 4. Dilution test.

Dilution	Expected values (ng/ml)	Recovered values (ng/ml)	% Recovery
2 x	23.5	21.5	91.4
4 x	11.75	11.75	100.0
8 x	5.87	6.0	102.2
16 x	2.93	3.2	109.2
32 x	1.46	1.25	85.6
64 x	0.73	0.76	104.1
			$98.7 \pm 7.9$

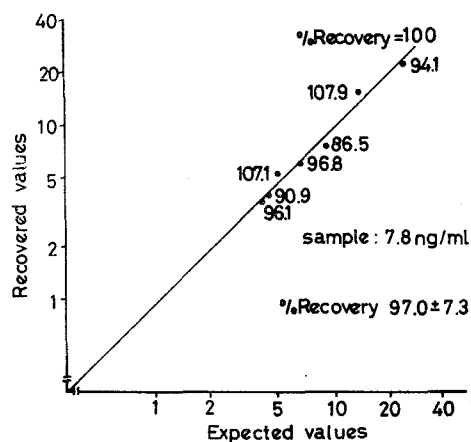


Fig. 1. Recovery test.

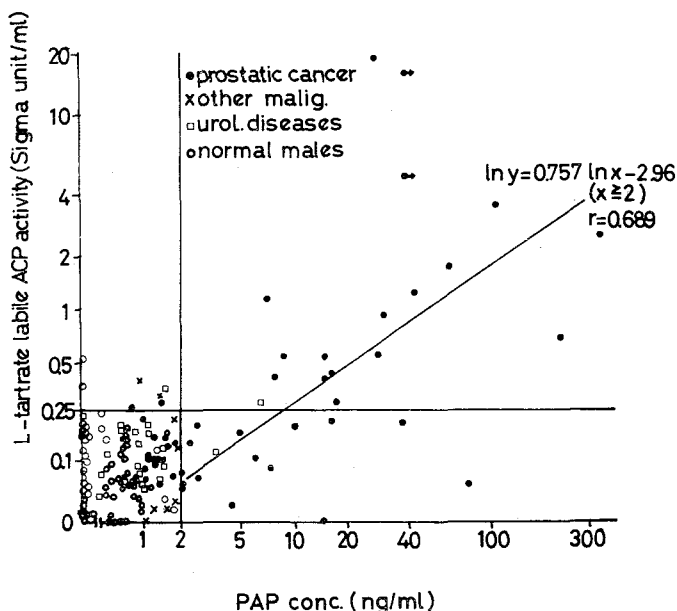


Fig. 2. Correlation between PAP concentration and L-tartrate labile ACP.

のり, 再現率は 86.5 ~ 107.9% ( $97.05 \pm 7.34\%$ ) であった (Fig. 1).

#### 5) 酵素活性測定法との相関

Fig. 2 に示すごとく L-tartrate labile ACP 活性 (y) と PAP 濃度 (x;  $x > 2.0$ ) のそれぞれの自然対数をとると  $\ln y = 0.757 \ln x - 2.96$  ( $y = 0.051x^{0.757}$ ),  $r = 0.689$  ( $p < 0.01$ ) と有意の相関を示した. PAP 濃度 2.0 mg/ml 以下では無相関であった.

#### 4. 臨床的検討

##### 1) 正常値と加齢

PAP 濃度は正常男性では  $0.417 \pm 0.411$  ng/ml ( $n =$

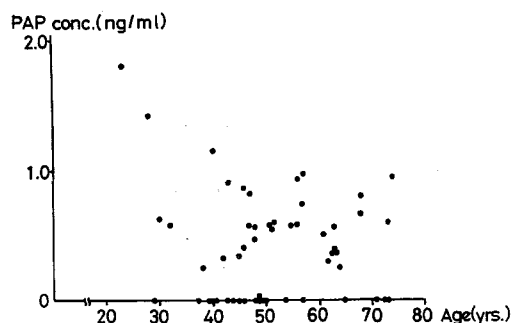


Fig. 3. PAP concentration and age of normal males.

52), 正常女性では  $0.435 \pm 0.557$  ng/ml ( $n = 10$ ) と両者に有意差は認めなかった. 正常男性における年齢と PAP 濃度との関係は Fig. 3 に示すごとくであり, 各年齢層における PAP 濃度 (mean  $\pm$  SD ng/ml) は,  $0.526 \pm 0.622$  (40歳以下, 11例),  $0.298 \pm 0.336$  (41~

Table 5. PAP concentration in blood and bone marrow sera.

pts-age-sex	disease	PAP conc. (ng/ml)	
		serum	BM
SW-74-M	BPH	0	2.15
EN-88-M	BPH	0.8	2.10
MT-74-M	BPH	0	0.32
DN-28-M	BT	0	0
CO-75-M	UT	0.6	0.25
AN-28-M	Hypogonad.	0	0.57
mean $\pm$ SD		$0.23 \pm 0.33$	$0.89 \pm 0.88$

( $p > 0.05$ )

BT: bladder tumor, UT: ureteral tumor, M: male

NS: not significant

Table 6. PAP concentrations in prostatic cancer and other diseases.

	No. Pts.	PAP conc. (mean $\pm$ SD)	
Prostatic cancer	56	$21.81 \pm 52.78$	$p < 0.01$
stage B	2	$1.12 \pm 0.37$	NS
stage B*	3	$5.34 \pm 6.13$	NS
stage C	2	$8.01 \pm 6.99$	NS
stage C*	11	$1.87 \pm 1.69$	$p < 0.05$
stage D	12	$40.32 \pm 56.56$	$p < 0.05$
stage D*	26	$26.68 \pm 63.96$	$p < 0.05$
Non-prostatic Ca	11	$1.24 \pm 0.55$	$p < 0.01$
BPH	11	$1.50 \pm 1.81$	NS
Dysuria	4	$1.55 \pm 1.22$	NS
Chronic prostatitis	1	1.02	-
Normal males	52	$0.41 \pm 0.41$	
Normal females	10	$0.43 \pm 0.55$	NS

\* after hormone therapy

Table 7. Frequency of increased PAP concentration or activity.

	No. Pts.	No. % of increased PAP	
		RIA test	Enzymatic test
Prostatic cancer	56	32 (57.1)	19 (33.9)
stage B	2	0 (0)	1 (50.0)
stage B <sup>※</sup>	3	1 (33.3)	0 (0)
stage C	2	1 (50.0)	0 (0)
stage C <sup>※</sup>	11	2 (18.1)	0 (0)
stage D	12	12 (100)	11 (91.6)
stage D <sup>※</sup>	26	16 (61.5)	7 (23.3)
Non-prostatic Ca	11	0 (0)	2 (18.1)
BPH	11	2 (18.1)	1 (9.1)
other urol. diseases	8	0 (0)	1 (12.5)
Normal males	52	0 (0)	1 (1.9)
Normal females	10	0 (0)	1 (10.0)

※ after hormone therapy

50歳, 16例),  $0.553 \pm 0.309$  (51~60歳, 10例),  $0.415 \pm 0.212$  (61~70歳, 10例),  $0.270 \pm 0.363$  (71~80歳, 5例) と各年齢層間に有意の差はなかった。

## 2) 血清と骨髓血の PAP

Table 5 に示すごとく, 骨髓血が  $0.89 \pm 0.88$  ng/ml と血清の  $0.23 \pm 0.33$  ng/ml に比べ高い傾向を示したが推計学的に有意差はなかった。

## 3) 前立腺癌および他疾患における PAP 濃度

各疾患における PAP 濃度は Table 6 のごとくである。正常男性より有意に高い値を示したものは PC と他の悪性腫瘍であったが, 後者はすべて 2.0 ng/ml 以下であり, 正常との有意差は悪性腫瘍の種類によっても知れない。

PAP 濃度 2.0 ng/ml 以下, L-tartrate labile ACP 活性 0.25 Sigma unit/ml 以下を正常とすれば, 異常を示す割合は Table 7 に示すごとくであり, 前者は後者より specificity が高い。しかし RIA では BPH で 2 例 (18.1%) の false positive が見られた。また stage D のホルモン治療群で RIA のみ高値を示す例があるが, 酵素活性のない蛋白を測定している可能性がある。この場合, 前立腺癌組織より PAP と類似した同一抗原性を有する蛋白が血中に放出されている

か, PAP のサブユニットで酵素活性のない蛋白を測定しているのかも知れない。

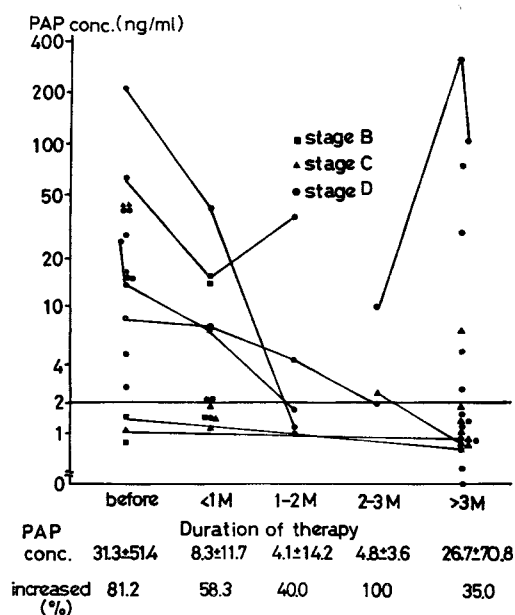


Fig. 4. PAP concentration and hormone therapy in prostatic cancer.

## 4) 治療と予後

ホルモン療法の期間と PAP 濃度の関係は Fig. 4 に示すごとくである。ホルモン療法後、L-tartrate labile ACP よりも PAP 濃度は漸減する傾向にあり、治療前 81.2% に対し治療後でも 46.3% (41例中19例) が 2 ng/ml 以上の高値を示した。よく control されているもののほとんどは 2 ng/ml 以下であった。

## 考察および総括

日常検査法として必要なことは 1) 時間および熟練を要しない、2) specificity, sensitivity, reproducibility に優れている、3) 必要検体量が少なく、かつ多量の検体を同時に測定可能な 3 点である。L-tartrate を用いた酵素活性測定法と RIA を比較すると、後者は時間を要し、やや煩雑であるが、specificity および sensitivity に優れている。しかし BPH で false positive がみられることは、前立腺組織が malignancy でなくても、炎症などで PAP が血中に上昇してくることを示唆しており、今後検討の余地がある。正常女性でも正常男性と同程度の PAP 濃度を認めることは抗原の交叉性（とくに肝や脾）や RIA 自体に問題があるのではないと思われる。また L-tartrate labile ACP 活性が低く、PAP 濃度が高い症例に対してはその原因を追求する必要がある。

## 結 語

前立腺酸性フォスファターゼの radioimmunoassay キット (DRL-9I7) による測定を行なった。

1) inter-assay と intra-assay における PAP 濃度の変動係数は  $9.81 \pm 4.45\%$  と  $7.89 \pm 2.45\%$  であった。

2) 希釈試験と添加回収率試験における再現率は  $98.75 \pm 7.93\%$  と  $97.05 \pm 7.34\%$  であった。

3) 酵素活性測定法 (Bessey-Lowry 法) と RIA は、PAP 濃度が 2.0 ng/ml 以上のもので有意の相関を示した。

4) 正常男性では  $0.417 \pm 0.411$  ng/ml ( $n=52$ )、正常女性では  $0.435 \pm 0.557$  ( $n=10$ ) と性差なく、加齢による PAP 濃度の変化はなかった。

5) RIA による PAP 濃度 2 ng/ml 以下を正常とすれば、未治療 stage D 100%、ホルモン療法後 stage D 61.5% の検出率で L-tartrate labile ACP の 91.6%、23.3% と比べると specific である。しかし false positive が BPH の 2 例でみられた。

以上、DRL-9I7 の基礎ならびに臨床的検討を行なった結果、前立腺癌の診断と治療効果の判定法、有用性であることが判明した。

本キットを供与して頂いた第一ラジオアイソトープ研究所に謝意を表するとともに、ご協力を頂いた下釜多久美文部技官ならびに泌尿器科教室員各位に感謝いたします。

## 文 献

- 1) Wajsman, Z. and Chu, T. M.: Prostatic cancer. 111p, PSG Publishing Company, Inc., Massachusetts, 1979.
- 2) Gutman, E. B., Sproul, E. E. and Gutman, A. B.: Am. J. Cancer, **28**: 485, 1936.
- 3) Yam, L. T.: Am. J. Med., **56**: 604, 1974.
- 4) Fishman, W. H. and Lerner, F.: J. Biol. Chem., **200**: 89, 1953.
- 5) Cooper, J. F. and Foti, A. G.: Invest. Urol., **12**: 98, 1974.
- 6) Foti, A. G., Cooper, J. F. and Hershman, H.: Clin. Chem., **24**: 140, 1978.

(1980年2月29日迅速掲載受付)